论 著

IVF/ICSI-ET取卵周期因素与不同移植次数结局的相关性分析

刘尧芳，文 露，付 正，陈绍威，王 芳，黄桂英
西南医科大学附属医院 生殖医学科（泸州 646000）

【摘 要】**目的** 分析长方案体外受精/卵细胞浆内单精子注射-胚胎移植（in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection -embryo transfer，IVF/ICSI-ET）患者的取卵周期特点对移植次数及结局的影响。**方法** 回顾性分析780例长方案IVF/ICSI-ET患者的临床资料，根据患者的移植次数分为移植1次、移植2次、移植≥3次，分别比较不同移植次数活产组、无活产组患者间取卵周期特点差异。**结果** 移植1次活产者与无活产者比较，前者取卵周期的年龄、基础卵泡刺激素（follicle-stimulating hormone，FSH）水平、基础FSH/黄体生成素（luteinizing hormone，LH）比值更低，促性腺激素（Gonadotropin，Gn）总量、Gn启动剂量更低，获卵个数、MⅡ卵数、优胚数等更高，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$）；Logistic回归分析显示：优胚数是移植1次结局的影响因素。取卵周期的年龄、基础FSH、获卵数等在移植2次者、≥3次者的活产组、无活产组间均无差异性（$P > 0.05$）。**结论** 长方案IVF/ICSI-ET患者取卵周期优胚数与第1次移植的活产率有关，而取卵周期因素可能与移植次数2次及以上的活产无关。

【关键词】体外受精/卵细胞浆内单精子注射-胚胎移植 移植次数 活产
【中图分类号】R711.51 文献标志码 A DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2021.06.010

Correlation between oocyte retrieval cycle-related factors and outcome of different embryo transfer times in patients with IVF/ICSI-ET

LIU Yao-fang，WEN Lu，FU Zheng，CHEN Shao-wei，WANG Fang，HUANG Gui-ying
Department of Reproductive Technology，the Affiliated Hospital of Southwest Medical University，Luzhou 646000，China

【**Abstract**】**Objective** To analyze the influence of oocyte retrieval cycle-related factors on the outcome of different embryo transfer times in patients with long protocol in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer（IVF/ICSI-ET）. **Methods** The clinical data of 780 patients with long protocol IVF/ICSI-ET were analyzed retrospectively. Oocyte retrieval cycle-related factors were compared between the live-birth group and the non-live-birth group in patients on the first，second，and third（or more）embryo transfers. **Results** For patients on the first embryo transfer，the live-birth group had a significantly younger age，a significantly lower basal follicle-stimulating hormone（FSH）level，a significantly lower basal FSH to luteinizing hormone ratio，significantly lower starting and total doses of gonadotropin，and significantly higher numbers of retrieved oocytes，metaphase II oocytes，and good quality embryos in the oocyte retrieval cycle than the non-live-birth group（all $P < 0.05$）. The logistic regression analysis showed that the number of good quality embryos was the influencing factor for outcome on the first embryo transfer. There were no significant dif-

基金项目：西南医科大附院博士科研启动基金项目（10984）
第一作者简介：刘尧芳，博士，副主任医师。
通信作者：黄桂英，硕士，副主任医师。E-mail：639269913@qq.com

ferences in age, basal FSH, and the number of retrieved oocytes between the live-birth group and the non-live-birth group on the second transfer or on the third (or more) transfer (all $P > 0.05$). **Conclusion** In patients with long protocol IVF/ICSI-ET, live birth can be affected by the number of good quality embryos in the oocyte retrieval cycle on the first embryo transfer, but may be not associated with the oocyte retrieval cycle-related factors on the second or more embryo transfer.

【Key words】 In vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer Embryo transfer times Live birth

体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)每移植周期约有25%~30%的患者获得活产儿[1],部分女性经过2次甚至多次移植可能也无法成功,原因不明。如何提高体外受精/卵细胞浆内单精子注射-胚胎移植(in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer,IVF/ICSI-ET)患者的活产率是广大生殖科医生努力解决的问题,明确移植次数及活产的相关因素或许能为提高活产率提供一定的依据。本研究通过分析长方案IVF/ICSI-ET移植次数及活产与患者取卵周期特点的相关性,以期明确取卵周期特点与活产间可能的联系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析2015年1月至2018年12月在西南医科大学附属医院生殖医学科行IVF/ICSI-ET助孕患者的临床资料。纳入标准:①采用黄体中期长方案初次助孕年龄小于40岁者;②非供卵供精、未进行胚胎植入前遗传学诊断或筛查;③每一次移植均为优质胚胎,行移植〔鲜胚移植或冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer,FET)〕并已随访完移植结局(已妊娠者随访至妊娠结束)。排除标准:①卵巢储备功能减退[2];②有子宫肌瘤、子宫腺肌病、子宫内膜息肉等影响着床的疾病,糖尿病、甲亢等基础疾病;③既往有复发性流产史、早产史及染色体异常者。纳入780例,平均年龄29.81±4.10岁,平均不孕年限4.82±3.59年。

1.2 取卵周期及移植处理

患者于月经周期第2~4 d空腹抽血测定基础雌二醇(basal estradiol,bE_2)、基础卵泡刺激素(basal follicle-stimulating hormome,bFSH)、基础黄体生成素(basal luteinizing hormone,bLH)及孕酮(progesterone,P)水平,阴道B超测定窦卵泡大小及数目。排卵后7 d开始使用达菲林0.1 mg/d,月经第2 d根据性激素和卵泡情况继续使用量0.05~0.1mg/d,持续用药14 d后复诊,达到降调节标准后使用促性腺激素(Gonadotropin,Gn)100~300 u启动促排,达菲林0.05 mg/d继续使用;动态监测卵泡发育情况以及E_2、P、LH水平,调整Gn用量;卵泡直径≥18 mm 3枚或≥20 mm至少1枚时,当晚予重组人绒促性素注射液(艾泽,Merck公司)250 ug扳机(HCG日),36~37 h后阴道B超引导下采卵。行IVF/ICSI受精,取卵后3 d对胚胎进行评估,结合患者情况、胚胎质量及数量选择移植、冷冻或囊胚培养。移植者予常规黄体支持14 d,查血hCG>3 U/L为生化妊娠,继续黄体支持,移植28~35 d超声发现宫腔内孕囊并见原始心管搏动为临床妊娠。全胚冷冻或移植后未孕有剩余胚胎者行FET,用药按生殖科常规进行。

1.3 评估指标

移植次数的界定:移植1次包括鲜胚移植和全胚冷冻者的第1次FET,移植2次包括鲜胚移植失败有剩余胚胎患者的第1次FET和全胚冷冻者的第2次FET病例,以此类推,见图1。统计到第一次活产,分析每一次移植的活产率,不同于累积活产率[3-4]。按照患者是否获得活产进行分组,分别比较不同移植次数的活产组、无活产组患者间取卵周期特点差异。

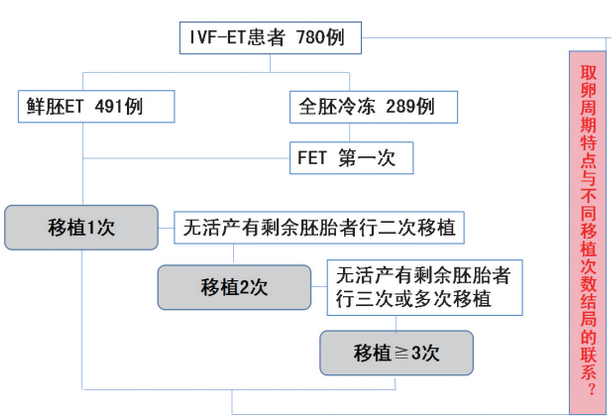


图1 移植次数流程图

1.4 统计学方法

分析采用SPSS19.0统计软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，两个样本均数比较采用独立样本t检验；计数资料以率(%)表示，用χ^2检验；多因素分析采用logistic回归分析，$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 移植1次活产与患者取卵周期特点间的联系

2.1.1 单因素分析 第1次移植的活产率为37.31%(291/780)。活产组、无活产组移植的胚胎数目分别为1.88 ± 0.32枚、1.84 ± 0.37枚，无统计学意义($t = 1.79$，$P = 0.07$)。两组取卵周期特点分析发现：年龄、基础FSH、基础FSH/LH比值、Gn总量、Gn启动剂量、抗苗勒管激素(anti-Mullerian hormone，AMH)、窦卵泡数、HCG日E_2水平、获卵数、MII卵数、优胚数等指标，在两组差异具有统计学意义($P < 0.05$)，见表1。

表1 第1次移植活产与无活产组间取卵周期特点比较

取卵周期特点	活产组($n = 291$)	无活产组($n = 489$)	t/χ^2	P
临床特点				
年龄(y)	29.41 ± 4.00	30.05 ± 4.15	2.14	0.03
BMI(kg/m^2)	22.34 ± 3.25	22.26 ± 3.39	0.33	0.75
AMH(ng/mL)	6.77 ± 4.18	5.70 ± 3.85	3.64	0.00
窦卵泡数(n)	17.94 ± 6.89	16.02 ± 6.50	3.90	0.00
bE_2(pmol/L)	148.04 ± 57.06	156.39 ± 61.00	1.89	0.06
bFSH (U/L)	7.85 ± 1.94	8.17 ± 2.22	2.08	0.04
bFSH/LH	2.36 ± 1.23	2.59 ± 1.41	2.28	0.02
原发不孕率(%，$n1/n2$)	47.77(139/291)	44.99 (220/489)	0.57	0.45
促排情况				
Gn天数 (d)	10.94 ± 1.62	10.81 ± 1.71	1.03	0.31
Gn总量 (U)	2 098.20 ± 842.32	2 378.89 ± 922.38	4.24	0.00
Gn启动剂量 (U)	183.85 ± 57.99	200.99 ± 60.83	3.87	0.00
HCG日E_2(pmol/L)	15 040.74 ± 6 824.07	12 863.43 ± 6 604.66	4.39	0.00
HCG日P (nmol/L)	2.78 ± 2.42	2.57 ± 1.66	1.50	0.13
HCG日LH (U/L)	0.86 ± 0.56	0.85 ± 0.57	0.13	0.90
实验室结局				
获卵数 (n)	14.20 ± 5.93	11.89 ± 5.55	5.47	0.00
MⅡ卵数 (n)	13.09 ± 5.80	10.92 ± 5.33	5.32	0.00
MⅡ卵率(%，$n1/n2$)	92.16(3 808/4 132)	91.78(5 338/5 816)	0.46	0.50
优胚数 (n)	6.23 ± 3.62	4.99 ± 3.09	5.08	0.00
优胚率(%，$n1/n2$)	66.91(1 812/2 708)	65.76(2 439/3 709)	0.93	0.33

2.1.2 多因素logistic回归分析 以是否活产为因变量(活产赋值1，未活产赋值0)，将单因素分析有差异的变量：年龄、基础FSH、基础FSH/LH比值、Gn总量、Gn启动剂量、AMH、窦卵泡数、获卵数、MII卵数、优胚数为自变量，纳入logistic回归分析，结果显示：优胚数是第1次移植活产的影响因素($P < 0.05$)，见表2。

2.2 移植2次活产与患者取卵周期特点间的联系

第1次移植未孕者，行第2次移植的活产率为43.30% (113/261)。按照移植后是否活产，将患者分为活产组、无活产组，两组移植的胚胎数目分别为1.95 ± 0.23枚、1.96 ± 0.20枚，无显著性差异($t = 0.47$，$P = 0.64$)。组间取卵周期特点比较发现：临床特点如年龄、促排情况如Gn天数、实验室结局如获卵数等差异均无统计学意义($P > 0.05$)，见表3。

表2 第1次移植活产影响因素的Logistic回归分析

研究因素	β值	SE值	Wald值	*OR*值(95%CI)	*P*
常量	1.022	0.798	1.641	2.780	0.200
年龄	0.000	0.022	0.000	1.000(0.985~1.044)	0.990
基础FSH	0.021	0.038	0.303	1.021(0.947~1.101)	0.582
基础FSH/LH	0.043	0.063	0.461	1.044(0.923~1.181)	0.497
AMH	0.006	0.024	0.059	0.994(0.949~1.041)	0.809
窦卵泡数	0.018	0.014	1.602	0.983(0.956~1.010)	0.206
Gn启动剂量	0.000	0.002	0.003	1.000(0.996~1.004)	0.958
Gn总量	0.011	0.010	1.172	1.011(0.991~1.032)	0.279
获卵数	0.044	0.052	0.713	0.957(0.865~1.059)	0.398
MII卵数	0.022	0.054	0.170	1.023(0.919~1.137)	0.680
优胚数	0.061	0.029	4.406	0.940(0.888~0.996)	0.036

2.3 移植3次活产与患者取卵周期特点间的联系

经过两次移植未活产者,行第3次移植者共66例,其中活产者26例,活产率为39.39%(26/66)。活产组、无活产组移植的胚胎数目分别为1.96±0.20枚、1.85±0.36枚,无显著性差异(t = 1.44, P = 0.16)。组间比较患者的临床特点如年龄、促排卵情况如Gn天数、实验室结局如获卵数等差异均无统计学意义(P > 0.05),见表4。

3 讨论

全球每年有超过160万IVF/ICSI-ET患者[1]。体外受精-胚胎移植后活产,是所有IVF/ICSI-ET患者及生殖科医生共同追求的目标,然而,经过40多年的探索及努力,活产率仍然没能达到100%。IVF-ET新鲜胚胎移植或冻融胚胎移植所使用的胚胎均来源于取卵周期,取卵周期因素如卵巢储备功能、卵子质量等会对胚胎质量产生一定的影响[5-6]。取卵周期中部分患者行鲜胚移植,而有的患者可能因子宫内膜异常、卵巢过度刺激风险等行全胚冷冻后续再FET[7-10]。IVF-ET患者中有移植一次或两次能抱婴回家的,也有经过反复多次移植也失败的[11-14]。当每一次移植所来源的胚胎均为同一取卵周期时,不同移植次数活产是否与取卵周期特点间有联系目前尚不明确。本研究中第1次移植的活产率为37.31%(291/780),单因素分析发现活产者的年龄、基础FSH、基础FSH/LH比值等显著低于无活产者,而AMH、窦卵泡数、HCG日E_2水平等显著高于无活产者。进一步行logistic回归分析发现,优胚数为第一次移植能否活产的显著相关因素。由此认为,IVF-ET第一次移植后能否获得活产与优胚数有一定的关系,其可能的原因为:目前优质胚胎的评分标准为两个原核且第3 d细胞数>6个、碎片≤10%、无多核及多个空泡等现象者[15];而同一批优质胚胎中也存在质量的相对差异,譬如评分为841、840的胚胎,均属于优质胚胎,但

表3 第2次移植活产与无活产组间取卵周期特点比较

取卵周期特点	活产组(n = 113)	无活产组(n = 148)	t/χ^2	*P*
临床特点				
年龄(y)	29.51±4.04	30.07±4.01	1.12	0.27
BMI(kg/m^2)	22.53±3.65	21.94±2.96	1.95	0.05
AMH(ng/mL)	6.13±3.76	5.63±3.83	1.05	0.30
窦卵泡数(n)	16.45±6.29	16.16±6.12	0.38	0.70
bE_2(pmol/L)	42.05±13.01	43.40±17.17	0.70	0.49
bFSH(U/L)	8.27±1.99	8.00±2.33	0.99	0.32
bFSH/LH	2.54±1.28	2.51±1.29	0.22	0.83
原发不孕率(%, $n1/n2$)	45.13 (51/113)	39.86 (59/148)	0.73	0.39
促排情况				
Gn天数(d)	10.91±1.64	10.78±1.76	0.63	0.53
Gn总量(U)	2 293.83±898.87	2 269.50±885.28	0.22	0.83
Gn启动剂量(U)	197.68±60.84	194.17±57.60	0.48	0.64
HCG日E_2(pmol/L)	3 924.10±187.79	3 774.50±131.93	0.67	0.50
HCG日P(nmol/L)	0.76±0.37	0.88±0.66	1.81	0.07
HCG日LH(U/L)	0.81±0.50	0.83±0.62	0.37	0.71
实验室结局				
获卵数(n)	12.89±5.57	13.11±4.69	0.34	0.74
MⅡ卵数(n)	12.14±5.44	11.97±4.44	0.28	0.78
MⅡ卵率(%, $n1/n2$)	92.79 (1 352/1 457)	91.34 (1 772/1 940)	2.38	0.12
优胚数(n)	6.44±3.19	5.86±2.44	1.66	0.10
优胚率(%, $n1/n2$)	69.87 (728/1 042)	68.40 (868/1 269)	0.58	0.45

表4 第3次移植活产与无活产组间取卵周期特点比较

取卵周期特点	活产组(n = 26)	无活产组(n = 40)	t/χ^2	P
临床特点				
年龄(y)	30.04 ± 3.49	30.35 ± 3.85	0.33	0.74
BMI(kg/m^2)	22.02 ± 3.15	21.80 ± 2.69	0.30	0.76
AMH(ng/mL)	5.73 ± 4.04	5.72 ± 4.56	0.01	0.99
窦卵泡数(n)	15.62 ± 6.28	16.80 ± 7.25	0.68	0.50
bE_2(pmol/L)	41.72 ± 12.72	41.37 ± 15.66	0.09	0.92
bFSH(U/L)	8.07 ± 2.52	8.30 ± 2.15	0.39	0.70
bFSH/LH	2.53 ± 1.43	2.61 ± 1.35	0.22	0.83
原发不孕率(%, $n1/n2$)	42.31 (11/26)	30.00 (12/40)	1.05	0.31
促排情况				
Gn天数(d)	10.50 ± 1.50	11.15 ± 1.89	1.48	0.15
Gn总量(U)	2 214.89 ± 896.79	915.62 ± 144.77	0.13	0.90
Gn启动剂量(U)	194.23 ± 53.30	185.63 ± 55.65	0.62	0.54
HCG日E_2(pmol/L)	3 627.38 ± 1643.48	4 005.74 ± 1 298.77	1.04	0.30
HCG日P(nmol/L)	0.89 ± 0.37	1.06 ± 1.09	0.78	0.44
HCG日LH(U/L)	0.97 ± 1.15	0.77 ± 0.35	1.06	0.29
实验室结局				
获卵数(n)	12.1 ± 3.79	13.08 ± 3.68	0.82	0.42
MⅡ卵数(n)	11.35 ± 3.56	12.28 ± 3.33	1.08	0.29
MⅡ卵率(%, $n1/n2$)	92.19 (295/320)	93.88 (491/523)	0.90	0.34
优胚数(n)	6.19 ± 2.99	6.50 ± 1.63	0.54	0.59
优胚率(%, $n1/n2$)	70.31 (161/229)	71.63 (260/363)	0.12	0.73

841质量比840更好;当优质胚胎数目较多时,移植首先选择质量更好的胚胎,因此妊娠机会及活产机会更大。本研究中,第2次移植、≥3次移植的活产率分别为:43.30%和39.39%;将活产组与无活产组进行比较发现,取卵周期中的年龄、AMH、获卵数等均无明显差别,这说明移植次数≥2次是否活产与取卵周期特点可能没有联系,如果患者移植2次及以上均失败,临床上应注意其他如子宫内膜容受性等因素[16-18]。

4 结论

取卵周期因素中的优质胚胎数目与移植1次活产与否有联系,而取卵周期因素与移植次数≥2次的活产可能关系不大。但本研究由于样本量不足,没有进行卵巢反应性、D3/D5胚胎间的比较,后期需要扩大样本量进行分层分析,以进一步明确不同移植次数活产的相关因素。

参 考 文 献

[1] Leijdekkers JA, Eijkemans MJC, van Tilborg TC, *et al*. Predicting the cumulative chance of live birth over multiple complete cycles of in vitro fertilization: an external validation study[J]. Hum Reprod, 2018, 33(9): 1684-1695.

[2] Cohen J, Chabbert-Buffet N, Darai E. Diminished ovarian reserve, premature ovarian failure, poor ovarian responder--a plea for universal definitions[J]. J Assist Reprod Genet, 2015, 32(12): 1709-1712.

[3] Zhang WL, Tian Y, Xie D, *et al*. The impact of peak estradiol during controlled ovarian stimulation on the cumulative live birth rate of IVF/ICSI in non-PCOS patients[J]. J Assist Reprod Genet, 2019, 36 (11): 2333-2344.

[4] Yin HQ, Jiang H, He RB, *et al*. Cumulative live birth rate of advanced-age women more than 40 with or without poor ovarian response[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2019, 58(2): 201-205.

[5] Barragán M, Pons J, Ferrer-Vaquer A, *et al*. The tran-

scriptome of human oocytes is related to age and ovarian reserve[J]. Mol Hum Reprod, 2017, 23(8): 535-548.

[6] Scheffer JB, Scheffer BB, de Carvalho RF, *et al*. Age as a predictor of embryo quality regardless of the quantitative ovarian response[J]. Int J Fertil Steril, 2017, 11(1): 40-46.

[7] Ozgur K, Bulut H, Berkkanoglu M, *et al*. Prediction of live birth and cumulative live birth rates in freeze-all-IVF treatment of a general population[J]. J Assist Reprod Genet, 2019, 36(4): 685-696.

[8] Wong KM, van Wely M, Mol F, *et al*. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 3(3): CD011184.

[9] Maheshwari A, Bhattacharya S, Bowler U, *et al*. Study protocol: E-freeze - freezing of embryos in assisted conception: a randomised controlled trial evaluating the clinical and cost effectiveness of a policy of freezing embryos followed by thawed frozen embryo transfer compared with a policy of fresh embryo transfer, in women undergoing in vitro fertilisation[J]. Reprod Health, 2019, 16(1): 81.

[10] Roque M, Valle M, Sampaio M, *et al*. Obstetric outcomes after fresh versus frozen-thawed embryo transfers: a systematic review and meta-analysis[J]. JBRA Assist Reprod, 2018, 22(3): 253-260.

[11] Zhu YC, Wu TH, Ye LJ, *et al*. Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in recurrent miscarriage and recurrent implantation failure[J]. J Assist Reprod Genet, 2018, 35(8): 1437-1442.

[12] Patel JA, Patel AJ, Banker JM, *et al*. Personalized embryo transfer helps in improving in vitro fertilization/ICSI outcomes in patients with recurrent implantation failure[J]. J Hum Reprod Sci, 2019, 12(1): 59-66.

[13] Moini A, Zafarani F, Jahangiri N, *et al*. The effect of vaginal sildenafil on the outcome of assisted reproductive technology cycles in patients with repeated implantation failures: a randomized placebo-controlled trial[J]. Int J Fertil Steril, 2020, 13(4): 289-295.

[14] Bar G, Harlev A, Alfayumi-Zeadna S, *et al*. Recurrent implantation failure: which patients benefit from endometrial scratching prior to IVF?[J]. Arch Gynecol Obstet, 2020, 301(3): 817-822.

[15] Racowsky C, Combelles CMH, Nureddin A, *et al*. Day 3 and day 5 morphological predictors of embryo viability[J]. Reprod Biomed Online, 2003, 6(3): 323-331.

[16] Vitagliano A, Saccardi C, Noventa M, *et al*. Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta-analysis[J]. Fertil Steril, 2018, 110(1): 103-112.e1.

[17] Cao HY, You D, Yuan MW, *et al*. Hysteroscopy after repeated implantation failure of assisted reproductive technology: a meta-analysis[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2018, 44(3): 365-373.

[18] Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent implantation failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2018, 16(1): 121.

（2021-06-05 收稿）